

sup.
Lans Medical Library
★ UNIVERSITÉ DE GENÈVE — FACULTÉ DE MÉDECINE
POLICLINIQUE MÉDICALE — PROFESSEUR Dr HUMBERT 196

COMPARAISON DES DIVERS RÉACTIFS EMPLOYÉS EN CLINIQUE POUR LA RECHERCHE DU SANG:

BENZIDINE, GAÏAC, PYRAMIDON, PHÉNOL,
GAÏACOL ET HYDROQUINONE.

THÈSE

PRÉSENTÉE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE L'UNIVERSITÉ DE GENEVE
POUR L'OBTENTION DU GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE.

PAR

JAKIR SAROFF

de Samokov (Bulgarie)



Thèse № 1290.

[1929]

COMPARAISON DES DIVERS RÉACTIFS

EMPLOYÉS EN CLINIQUE

POUR LA RECHERCHE DU SANG:

BENZIDINE, GAÏAC, PYRAMIDON, PHÉNOL,
GAÏACOL ET HYDROQUINONE.

THÈSE

PRÉSENTÉE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE L'UNIVERSITÉ DE GENÈVE
POUR L'OBTENTION DU GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE.

PAR

JAKIR SAROFF

de Samokov (Bulgarie)



Thèse № 1290.

La Faculté de Médecine, sur le préavis favorable de M. le Prof. Dr. Humbert, autorise l'impression de la présente thèse, sans prétendre par là émettre d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

Genève, le 22 Avril, 1929.

Le Doyen:

M. ROCH.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MES CHERS PARENTS

A MES AMIS

A LA MÉMOIRE DU

PROF. D^r G. HUMBERT

Pour l'amabilité qu'il a eue de nous proposer le sujet de notre thèse, ainsi que pour les leçons et conseils si précieux qu'il nous a prodigués pendant nos études universitaires, et pour l'hospitalité qu'il nous a accordée dans les consultations de la polyclinique.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

COMPARAISON DES DIVERS RÉACTIFS

EMPLOYÉS EN CLINIQUE

POUR LA RECHERCHE DU SANG:

BENZIDINE, GAIAC, PYRAMIDON, PHÉNOL, GAIACOL ET HYDROQUINONE.

Avant la découverte de **O. et R. Adler** on se servait surtout de deux réactions pour la recherche du sang, tant dans les fèces, que dans les crachats ou dans l'urine. C'étaient:

1) la réaction de **Teichmann**, donnant les cristaux d'hème et

2) la réaction de **Schönbein**, avec une solution alcoolique de résine de gaïac et de térébenthine peroxydée.

Ces deux réactions sont totalement différentes l'une de l'autre. La première nous donne directement un produit provenant de l'hémoglobine — les cristaux de chlorhydrate d'hématine. La seconde par contre, nous donne une réaction colorée; mais au lieu d'être un produit dérivé du sang, cet anneau bleu que nous donne la réaction, provient d'une oxydation possible seulement en présence d'un catalyseur, d'un peroxydant que contient le sang. Or, le sang n'est pas la seule substance pouvant produire une oxydation par catalyse. En 1893 déjà, **Weber**¹⁾ fait remarquer que nombreuses sont les substances ayant le même effet et pouvant ainsi constituer des causes d'erreur.

Sahli relève également ce fait: „ces réactions, dit-il, étant basées sur l'action catalysante des dérivés du sang, et c'est probablement le fer du sang qui joue ce rôle, d'autres produits ayant aussi un pouvoir catalysant, donneront également une réaction positive.“ Il s'agit surtout des dérivés des aliments carnés, puis de la chlorophylle, certains ferments végétaux ou animaux et enfin des sels de fer et de bismuth.

¹⁾ Berl. Klin Wochenschr. 4891 № 19.

En 1904 **O. et R. Adler** publient un travail dans lequel ils préconisent la **Benzidine** comme réactif des ferments peroxydants. Il était tout naturel de s'en servir aussi pour la recherche du sang, tout en tenant compte naturellement des causes d'erreur, que nous avons indiquées ci-dessus.

Nous avons vu que Sahli croit pouvoir attribuer le pouvoir peroxydant au fer de l'hémoglobine. **Morgan** par contre, attribue ce pouvoir aux leucocytes polynucléaires ainsi qu'au plasma du sang.

Cette question a été travaillée encore par **Kjöllnerfeldt** à l'Institut de Biologie physico-chimique de Berne. Ses travaux démontrent d'une façon très nette que le fer par lui-même, comme molécule, ne peut pas être la cause de cette action, car pour obtenir une oxydation pareille à celle qui se produit en présence de sang, il faut une solution contenant 1000 fois plus de fer que n'en contient la quantité de sang nécessaire.

La réaction à la Benzidine a subi de vives attaques. La réaction, en effet, ne donnait pas toujours des résultats constants. Elle était trop sensible; puis la couleur de la réaction était parfois bleue, parfois verte, parfois ne donnait que des précipités colorés, tandis que le reste de la solution était incolore.

La technique de la réaction à la Benzidine a été modifiée bien des fois; **Gregersen** attribue l'excès de sensibilité au fait qu'on s'était servi de concentrations trop fortes. **Boas** fait les mêmes constatations: en se servant d'une solution de benzidine à 0,5% on évite certainement cette cause d'erreur. Boas simplifie la technique en faisant préparer des comprimés contenant 0.05 de benzidine et 0.2 de peroxyde de baryum. On dissout un comprimé dans 10 cc d'acide acétique à 50% pour obtenir instantanément le réactif.

„En résumé, dit Boas, la réaction de la Benzidine d'après Gregersen est certainement une réaction suffisamment précise pour la recherche du sang, surtout s'il s'agit de s'orienter par une opération préliminaire. Elle est donc tout spécialement indiquée pour le praticien. Par contre elle ne réussit pas toujours quand il s'agit de quantités minimales de sang, et il faut, dans ce cas, contrôler avec la réaction au gaiac.“

Quant à la question des différentes colorations que donne

la benzidine oxydée, **Schlesinger et Gattner**¹⁾ l'expliquent de la façon suivante: „Le produit de la réaction est un cristal bleu. S'il y a de l'acide acétique en quantité suffisante, ces cristaux se dissolvent et donnent une solution verte. Donc avec une **petite quantité** d'acide acétique la réaction positive sera **bleue** et en présence d'une **grande** quantité de cet acide, elle sera **verte**.“

Kjöllerfeld se sert d'une solution aqueuse de chlorhydrate de benzidine. Dans ce réactif l'acidité augmente avec la solubilité; d'autre part moins le réactif est soluble plus la coloration est nette.

Il prépare une solution 1 200 de chlorhydrate de benzidine qui possède l'optimum de concentration avec le minimum d'acidité — l'oprimum de coloration. L'optimum de coloration à la réaction est une certaine stabilité quand elle est conservée dans un flacon bien bouché.

Il importe également, d'après Kjöllfeldt, de connaître la quantité optimale à employer; pour une quantité de sang d'environ 0,0001 cc il faut prendre 1 cc de la solution de benzidine et 0,1 cc de $H_2 O_2$ à 3%, L'intensité de la coloration est parallèle à la quantité d'hémopéroxydase; d'autres peroxydants, tels que les sels des métaux lourds, le formaldéhyde, ont une activité infiniment plus faible. On trouve de grandes différences individuelles: ainsi le sang de l'homme donne encore une réaction en solution de 1/1,000,000, tandis que celui de la femme agit seulement jusqu'à 1/500,000.

La réaction n'est pas parallèle à la quantité d'hémoglobine. L'ébullition enlève au sang la moitié de son activité.

En 1918 **Thevenon et Roland** proposent la réaction au **pyramidon** pour la recherche du sang dans l'urine. **L. Pron** reprend ces travaux pour comparer cette réaction à celle de la benzidine. On procède de la façon suivante: mélanger à parties égales de l'urine à examiner et une solution alcoolique à 5% de pyramidon; ajouter 6 à 8 gouttes d'acide acétique et 5 à 6 gouttes de $H_2 O_2$. En présence de sang il se produit une coloration mauve, due à l'oxydation du pyramidon.

Cette réaction marche parallèlement à celle de la benzidine; pour les faibles quantités de sang elle est cependant beaucoup plus lente et moins nette, par le fait que le mauve pâle tranche

¹⁾ voir aussi: med. Klinik 1913 № 11 et D. n. w: 1918 № 12.

moins que le bleu sur un fond blanc. Pron ne trouve donc aucun avantage à cette nouvelle méthode.

En 1919 **Devegnay** étudie dans le service du Prof. Bard cette réaction du pyramidon en la comparant séparément, suivant les substances à examiner, aux autres réactions du sang.

Il considère la réaction du pyramidon comme étant plus sensible que celle au gaiac, et aussi sensible que la réaction de la phénolphtaléine. Elle est préférable aux autres réactions pour l'examen du suc gastrique parce que avec l'extrait alcool-acétique, elle comporte le minimum de causes d'erreur; elle a la même valeur que celle du gaiac pour l'examen des fèces, mais doit être évitée quand il s'agit d'examiner les liquides d'épanchement et le liquide céphalo-rachidien, où la réaction est parfois légèrement positive à l'état normal.

La réaction du **gaïacol** a été employée par **Marian** pour la recherche des peroxydases du lait. Le lait cru, à l'état normal, contient toujours des peroxydases. On sait que la recherche de ces peroxydases est une des méthodes de laboratoire pour distinguer le lait cru du lait cuit.

Pour résumer les travaux qui ont été faits avec les différents réactifs de la peroxydase pour la recherche du sang, nous mettrons en parallèle les résultats qu'ont indiqués les auteurs, quant à la sensibilité, dans le tableau suivant, page 11.

Recherches personnelles

Pour établir une comparaison uniforme entre les différentes réactions dont nous avons parlé, nous avons fait avec une série de dilutions différentes de sang dans de l'eau distillée, les **réactions du gaïacol**, du **pyramidon**, de la **benzidine**, de la **teinture de gaiac**; puis dans quelques cas encore les réactions du **phénol** et de l'**hydroquinone**. Chaque fois nous avons fait parallèlement la réaction sur les dilutions fraîches et les dilutions bouillies.

Technique. —

Nous partons d'une solution au millième faite de la manière suivante: la personne dont on examine le sang fait tremper sa main 10 minutes dans de l'eau chaude, ceci afin d'établir une circulation normale à la périphérie. C'est ainsi que procède

Réactif	d'après Keuther, élève de Boas			Devegney élève de Fard		Kjollerfeldt	Adler	Adler, cité par Kjollerfeldt		Schumm et Westf. cité par Devegney	
	Benzi- dine	Phenol- pita- tène	Gaiac	Pyramidon				Gaiac	Teich- mann	Benzi- dine	Gaiac
	dans	P'eau		dans l'eau	dans l'urine	dans l'eau	dans l'eau	dans l'eau	dans l'eau	dans l'eau	dans l'eau
Dilution du sang											
1/ 1.000	++	++	++		immédiatement		→	jusqu'à 1 sur 5.000	jusqu'à 1 sur 20.000 +	+	jusqu'à 1 sur 25.000
1/ 2.000										→	jusqu'à 1 sur 200.000
1/ 5.000	++	++	++						+	→	
1/ 10.000	++	++	faible	1 min.		++					
1/ 20.000											
1/ 25.000	++	+	—		2 min.						
1/ 40.000	++	faible	—		3 min.						
1/ 50.000	+		—								
1/ 60.000	+		—								
1/ 80.000	+		—								
1/100.000	faible	—	—	2 min.	5 min.	+	+			+	
1/200.000			—	2 min.		—					

Naegeli pour ses examens du sang; il admet qu'alors le sang qui circule dans la main est pareil à celui des gros vaisseaux. On supprime ainsi la stase par une hyperémie active.

On pique avec une lancette le bout d'un doigt et on prélève avec la pipette de l'hémoglobinomètre de Sahli, 20 mm³ de sang que l'on met dans une éprouvette contenant 20 cc d'eau distillée.

Les réactifs que nous avons employés sont les suivants:

- 1) **Gaiacol** gaiacol cristallisé 1,0
alcool à 95° 1,0
eau distillée ad 100,0
- 2) **Pyramidon** solution à 5% dans de
l'alcool à 90°
- 3) **Benzidine** une pointe de couteau
de benzidine pure cristallisée dans l'acide
acétique à 50%
- 4) **Teinture de gaiac** . . . solution saturée de résine de gaiac non oxydée dans de l'alcool à 95°
- 5) **Phénol** solution à 1%
- 6) **Hydrochinone** solution à 1%

Nous avons travaillé avec 1 cc de la solution de sang, 1 cc du réactif et 1 cc d'H₂O₂ du commerce diluée à 1/10.

Dans ce système le réactif est la substance qui sera oxydée, l'H₂O₂ fournit l'O et le sang est le catalysateur, qui libère l'O de l'H₂O₂.

Voici sous forme de tableau les résultats que nous avons obtenus:

		Gaïcol		Pyramidon		Benzidine		Gaïac		Phénol		Hydroquinone		++ = très positif + = positif ± = faiblement positif A = résultats pour les dilutions de sang frais B = résultats pour les dilutions de sang bouilli
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	
obs.	1 1/1000	++	—	++	++	++	++	++	++	+	+	—	—	
obs.	5 1/1000	+	++	++	++	+	+	++	++	+	+	—	—	
obs.	6 1/1000	+	—	+	++	+	—	+	+	+	—	—	—	
obs.	9 1/1000	++	++	++	+	+	+	++	++	—	—	—	—	
obs.	2 1/2000	+	+	++	+	++	++	++	++	+	+	—	—	
obs.	7 1/2000	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	
obs.	8 1/2000	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+	—	—	
obs.	10 1/2000	+	+	+	+	++	—	+	+	—	—	—	—	
obs.	3 1/5000	+	—	—	++	—	—	++	++	—	—	—	—	
obs.	4 1/10000	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

Nous faisons, en examinant ces tableaux, plusieurs constatations:

1) à dilutions égales, deux solutions faites avec des sangs différents, ne donnent pas toujours des réactions de même intensité,

2) à dilutions égales, l'intensité des réactions au gaiacol, au pyramidon, à la benzidine et à la teinture de gaïac, ne marchent pas toujours parallèlement.

3) après l'ébullition les réactions ne sont plus les mêmes. En général, et spécialement au gaiacol, le sang bouilli donne une réaction plus faible que le sang frais.

4) le phénol et l'hydrochinone ne donnent pas des réactions qui puissent être utilisées pour les recherches du sang en solution diluée.

5) pour des dilutions allant de 1/1.000 à 1/10.000 nous avons trouvé que le réactif le plus sensible était le **gaïacol** et la teinture de **gaïac**. Le pyramidon et la benzidine sont moins sensibles.

ad. 1) **Kjöllerfeldt** déjà constate de grandes différences individuelles en cherchant la limite des dilutions donnant encore une réaction positive. Il trouve des liquides variant entre 1/1.320.000 et 1/200.000. Ceci explique la grande variété des indications que l'on trouve dans la littérature concernant la sensibilité des réactifs.

ad. 2 et 3) Nous sommes en présence de plusieurs ferments peroxydants; les uns sont thermostabiles, les autres thermolabiles. Leur proportion n'est certainement pas constante pour tous les sangs, ce qui explique le manque de parallélisme des différents résultats, parallélisme que l'on trouverait certainement si les ferments agissaient, pour chaque sang de la même façon et dans les mêmes proportions.

Conclusions

Vu le grand nombre de facteurs qui entrent en jeu dans la recherche du sang basée sur l'action des peroxydases, il est très difficile d'établir une comparaison tenant compte de tous ces facteurs. Pour chaque réactif il y a des causes d'erreur différentes, différentes aussi suivant l'objet à examiner: crachat, fèces, urine, suc gastrique, solution aqueuse de sang.

Les meilleurs réactifs sont:

a) le **gaïacol**, b) le **pyramidon**, c) la **benzidine**, d) la **teinture de gaïac**.

a) le **gaïacol** peut être conservé en solution prête à l'emploi, d'où simplification de la technique. Il est assez sensible pour les examens cliniques.

b) le **pyramidon**, également conservé en solution prête à l'emploi, donne une réaction plus lente, demandant jusqu'à cinq minutes. La couleur de sa réaction étant mauve, les réactions faibles sont difficiles à déterminer, cette couleur ne tranchant pas suffisamment sur fond blanc.

c) la **benzidine** doit être préparée chaque fois soit avec des cristaux de benzidine, soit avec les comprimés de Boas. La solution à 0,5% permet d'exclure la majorité des causes d'erreur; par contre elle ne réagit pas avec les quantités minimales de sang.

d) la **teinture de gaïac** doit être préparée chaque fois avec de la résine de gaïac. Comme la résine s'oxyde à l'air il faut chaque fois que l'on prépare le réactif, couper un morceau de résine et n'en prendre qu'au milieu du morceau. La réaction elle même par contre donne un bel anneau bleu très net.

Si on tient compte et de la technique et de la sensibilité, c'est la réaction du gaïacol qui est la plus favorable.

Bibliographie

Marfan — Les peroxydases du lait, particulièrement du lait de femme. Journal de physiologie et pathologie générale 1920 p. 935.

Tevenon & Roland — Procédé de la recherche du sang dans l'urine, les matières fécales et les liquides pathologiques. Lyon médical 1918 Noll.

L. Pron — La réaction du sang au pyramidon. Soc. de Biologie 1919 page 731.

Devegney — Contribution à l'étude des réactions chimiques du sang. Thèse de Genève 1919 № 872, service du Prof. Bard.

Kjöllerafeldt — Beitrag zur Kenntniss des Benzidinals chromogen bei den biologischen Oxydationsreaktionen. Pflügers Archiv für die gesamte Physiologie 1918 page 318.

Kjöllerfeldt — Beitrag zur kenntniss der Peroxydasen, même vol. page 335.

Boas — Ueber die Eregersen'sche Modification der Benzidinréaktion für den okkulten Blutnachweis. Berlin, Klin. W. Schrift 1919 Heft 40.

Schön & Wolfner — Ueber die verschiedene Modifikationen der Benzidinreaktion zum Nachweis von Blut im Stuhl. Berl klin. W. Schrift 1920 p. 1050.

Gatter & Emmo — Untersuchungen über Fehlerquellen der Benzidinreaktion beim Nachweis okkultur Blutungen. D. Arch. f. klin. Med. 1920 Bd. 133 p. 135.

Schlesinger & Cattner Ueber den Einfluss der Essig säure auf die Benzidinreaktion. Berl. W. Schrift 1919 H. 30.

Boas—Archiv für Verdauungskrankheiten 1917 Heft 4.

Gregersen — Arch. für Verdauungskrankheiten 1919 Heft 3.

Sahli — Lehrbuch der klinische Untersuchungsmethoden 6e édit. 1914.

Pour la bibliographie complète voir:

Batelli & Stern,

Die Oxydationsfermente,

Ergebnisse der physiologie 1912 Bd 12.

